

Cold pitting en la mandarina "Fortune". Descripción de la alteración y control pre-cosecha

R. VERCHER¹, F. TADEO², M. JUAN¹, I. TRENOR², R. GAZZOLA², E. ALONSO², V. ALMELA¹,
S. ZARAGOZA², E. PRIMO-MILLO² y M. AGUSTÍ^{1, (*)}

INTRODUCCIÓN

La mandarina 'Fortune' es un híbrido de mandarina 'Clementina' x mandarina 'Dancy', obtenida por Furr (1964) en California (EE.UU.). La característica más importante de esta variedad, y probablemente la que más ha favorecido su expansión, es su época de recolección, que se inicia a mediados de febrero permitiendo ampliar el periodo de comercialización de las mandarinas, con los beneficios que ello comporta. Su coloración y la calidad interna del fruto son características asimismo notables de esta variedad (BONO *et al.*, 1984; AGUSTÍ y ALMELA, 1989).

Su cultivo, sin embargo, presenta algunos problemas. Su tendencia a florecer abundantemente, el reducido tamaño medio de los frutos, la aparición de alteraciones en la corteza cuando se supera la maduración hortícola, facilitada por su fina textura, y su natural predisposición a la abscisión de frutos maduros, son algunos de los problemas más notables (AGUSTÍ y ALMELA, 1989).

Pero el problema más grave al que se enfrenta esta variedad es la aparición de una alteración fisiológica denominada *cold pitting* o *picado*, a la que es muy sensible. Su incidencia hace que aumenten notablemente las pérdidas por destrío. La expansión y supervivencia de esta variedad dependen, en gran medida, de la resolución de este problema.

El origen del *picado* no está relacionado con las alteraciones asociadas a la senescencia de los frutos cítricos. En la época de aparición de la alteración (diciembre-enero) la corteza de los frutos no presenta síntomas aparentes de envejecimiento, ya que acaba de producirse el cambio de color (JACKSON *et al.*, 1992). La sintomatología de esta alteración, las características de las lesiones, así como la no progresión de los daños en el tiempo, difieren de las descritas en las mandarinas 'Clementinas' (GUARDIOLA *et al.*, 1981; AGUSTÍ *et al.*, 1988; AGUSTÍ y ALMELA, 1991), y que han sido asociadas a la senescencia de la corteza. La confluencia de determinadas condicio-

En la mandarina 'Fortune', el cold pitting sólo afecta a las capas epidérmicas del flavedo y a unos pocos estratos subyacentes, cuyas células pierden su contenido vacuolar y su citoplasma se contrae y colapsa, apareciendo grandes espacios aéreos entre éste y la pared celular. A pesar de ello, la capa cuticular permanece intacta. Su presencia e intensidad se relaciona estrechamente con la posición del fruto en el árbol. Inicialmente las zonas afectadas son muy pequeñas y puntuales, pero con el tiempo se ensanchan y se unen formando amplias áreas de afección. La aplicación de nitrato cálcico, a una concentración del 2%, consigue reducir la alteración. Su eficacia no está relacionada con la época de aplicación y la adición de sustancias hormonales no parece mejorarla.

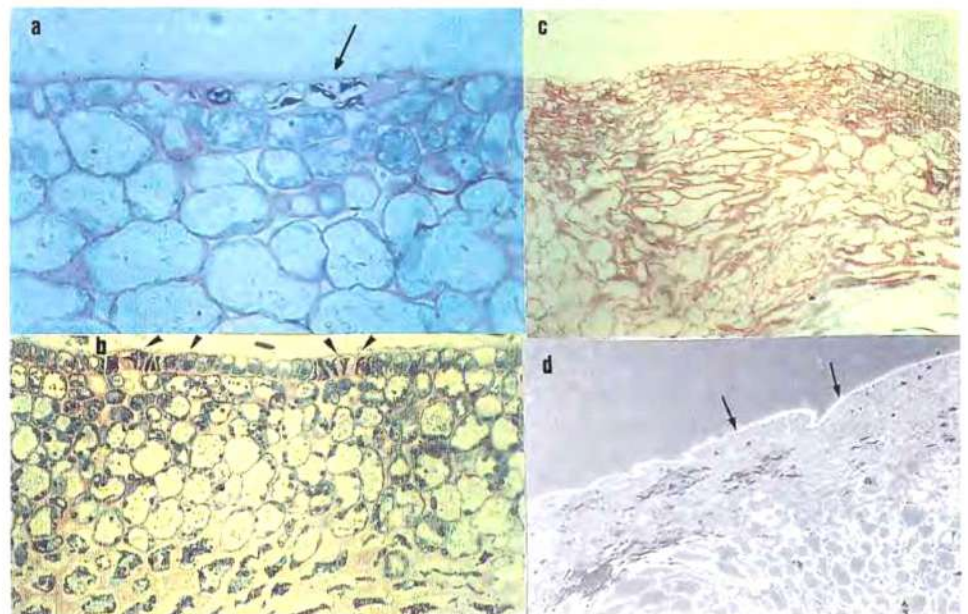


Fig. 1. Observaciones al m.o. de la corteza procedente de frutos con síntomas de *picado*. a. Zona de inicio de los síntomas (flecha) (x 750). Tinción negro-amido/PAS. b. Zonas de inicio de los síntomas (flechas) (x 230). Tinción negro-amido/PAS. c. Zona con síntomas severos. Las células subepidérmicas y parenquimáticas se encuentran afectadas (x230). Tinción rojo de rutenio. d. Zona con síntomas severos. La cutícula (flechas) permanece intacta (x100). Tinción Auramina O.

nes medioambientales durante el período de maduración, tales como vientos predominantemente fuertes y valores bajos de temperatura y humedad relativa, aún sin afectar homogéneamente a los frutos individuales, podría ser el factor desencadenante del *picado* (ALMELA *et al.*, 1992a).

Estudios previos indican que el tratamiento con ácido giberélico, que retrasa la senescencia de la corteza, se ha mostrado ineficaz en el control del *picado*. Sin embargo, la aplicación de nitrato cálcico reduce considerablemente la aparición de frutos con síntomas (JACKSON *et al.*, 1992). Las auxinas también se han mostrado activas, lo que se ha relacionado con el aumento del espesor de la corteza que provocan (AGUSTI Y ALMELA, 1989), pero su eficacia es limitada.

En este estudio se caracteriza la alteración, tanto desde el punto de vista histológico como ultraestructural, mediante microscopía óptica y electrónica de barrido, y se estudia la incidencia en el campo de la alteración y la eficacia de la aplicación de nitrato cálcico en distintas épocas, sólo o en combinación con sustancias hormonales.

Material y métodos

Estudio histológico y ultraestructural. Con el fin de caracterizar la alteración se reco-

lectaron frutos de mandarina 'Fortune' con síntomas de diferentes niveles de severidad. Los fragmentos afectados de la corteza se procesaron para su observación al microscopio óptico (m.o.) y al microscopio electrónico de barrido (SEM). Para su observación al m.o. se fijaron con glutaldehído en tampón fosfato Sörensen 50 mM, se deshidrataron en soluciones crecientes de alcohol etílico y se incluyeron en una resina acrílica (LR White). Se cortaron en secciones de aproximadamente 1 µm con ultramicrotomo (Reichert Ultracut) y se colorearon con Sudan IV y Auramina O para observar la cutícula, con rojo de rutenio para analizar pectinas, y con negro amido-PAS para estudiar azúcares insolubles y proteínas. Las secciones de corteza así montadas se examinaron con un microscopio Leitz Orthomat equipado con filtro de excitación de luz UV y cámara Orthomat-W.

Para su observación al SEM, los fragmentos de corteza fueron fijados y deshidratados siguiendo el mismo procedimiento descrito para su observación al m.o. Posteriormente el material se sometió a punto crítico y se metalizó con oro en un Polarón E-6100, quedando así las muestras listas para su observación, que se efectuó en un microscopio electrónico de barrido ISI-130 a 10-15 Kv, observándose las

muestras desde 170 a 1700 aumentos.

Control de la alteración. El estudio se llevó a cabo en 4 parcelas de mandarina 'Fortune' situadas en zonas climáticamente distintas y con las siguientes características:

Parcela nº 1. Situada en el término de Alzira (Valencia), con suelo franco y riego localizado, con árboles de 5 años de edad, con patrón Citranger Carrizo (*Citrus sinensis* x *Poncirus trifoliata*) y con un marco de plantación de 3x3 metros. En esta parcela se estudió el efecto sobre la incidencia del *picado* de la aplicación de nitrato cálcico, a una concentración del 2%, en dos fechas, 6 de noviembre y 11 de diciembre (1992), y de la repetición del tratamiento. Se diseñó un experimento de bloques al azar con 4 repeticiones de dos árboles cada una.

Parcela nº 2. Situada en el término de Onda (Castellón), con suelo franco-arcilloso y riego localizado, con árboles de 5 años de edad, con patrón naranjo amargo (*C. aurantium* L.) y con un marco de plantación de 4x4 metros. En esta parcela se estudió la eficacia de los tratamientos al cambio de color del fruto con nitrato cálcico, a una concentración del 2%, aplicado sólo y sobre árboles tratados a finales de julio con

Una de las primeras medidas adaptativas de las plantas, ante una situación adversa, es el cierre estomático, lo que significa una gran limitación en la asimilación fotosintética del CO₂, que repercute en una merma de la productividad.

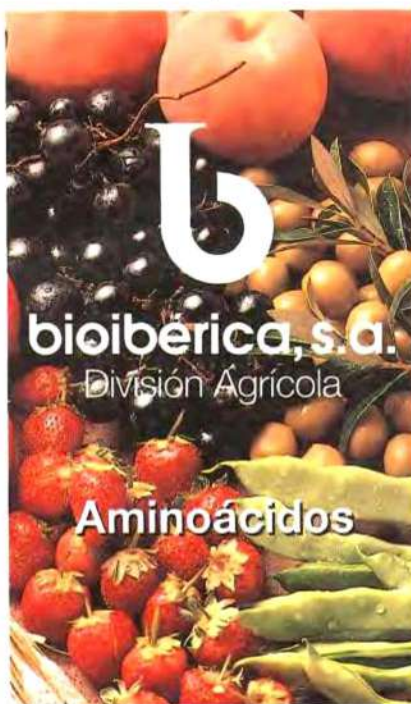
Se sabe que aplicaciones exógenas de aminoácidos provocan respuestas alternativas en las plantas modificando la permeabilidad de las membranas de las células guarda al H₂O, al malato y al K. Además, gracias a su fácil incorporación y a su papel como sustancias osmóticamente activas, pueden acumularse en las células guarda de los estomas, disminuyendo el potencial osmótico, por lo que la célula absorbe más agua.

Bajo condiciones ambientales adversas las plantas acumulan aminoácidos que actúan como solutos para el ajuste osmótico intracelular, y como protectores de la maquinaria metabólica en esas condiciones.

La prolina juega un papel primordial en esta osmorregulación. Se forma a partir de glicina y serina, intermediarios sintetizados en el ciclo fotorespiratorio de la oxidación del CO₂, como consecuencia de un efecto estresante que cause cierre estomático.

Por otro lado, en condiciones adversas las plantas también acumulan ácido abscísico (ABA), que inhibe la hidrólisis del almidón y la bomba electrogénica situada a nivel de

Aminoácidos en la regulación del control estomático



membrana, afectando el transporte de protones y cerrando los estomas. Los aminoácidos y otras sustancias presentes en Terra-Sorb son unos potentes antagonistas del ABA, ya que restablecen el flujo de protones y provocan una disminución de la relación ácido abscísico/citoquinina.

El Departamento de I+D de BIOIBERICA, en colaboración con el C.S.I.C. y la Facultad de Farmacia de Barcelona, realizó un estudio sobre el efecto de aminoácidos procedentes de hidrólisis enzimática en el control estomático, que presentaron en Florencia, en el marco del XXIIIº Congreso Internacional de Horticultura.

En dicho trabajo se comprobó que más del 60% de los estomas de hojas de tomate tratadas con Terra-Sorb Foliar se mantenían abiertos a una Humedad Relativa del 30%, mientras que las hojas no tratadas presentaban la totalidad de sus estomas cerrados en esas condiciones.

Asimismo, se observó que la fotosíntesis neta de las plantas tratadas se incrementaba alrededor de un 80% con respecto a las plantas tomadas como testigo.

Los excelentes resultados obtenidos con Terra-Sorb y Aminoquelant-Ca justifican la aplicación de aminoácidos procedentes de hidrólisis enzimática a cultivos sometidos a estrés hídrico, térmico, salino u otras condiciones adversas.

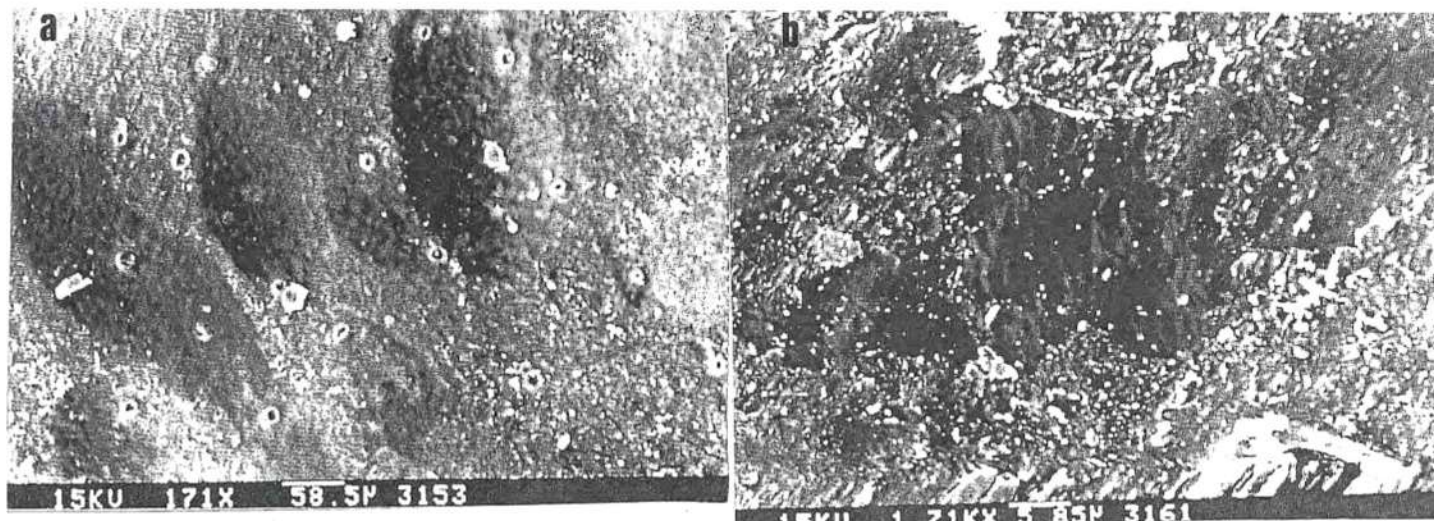
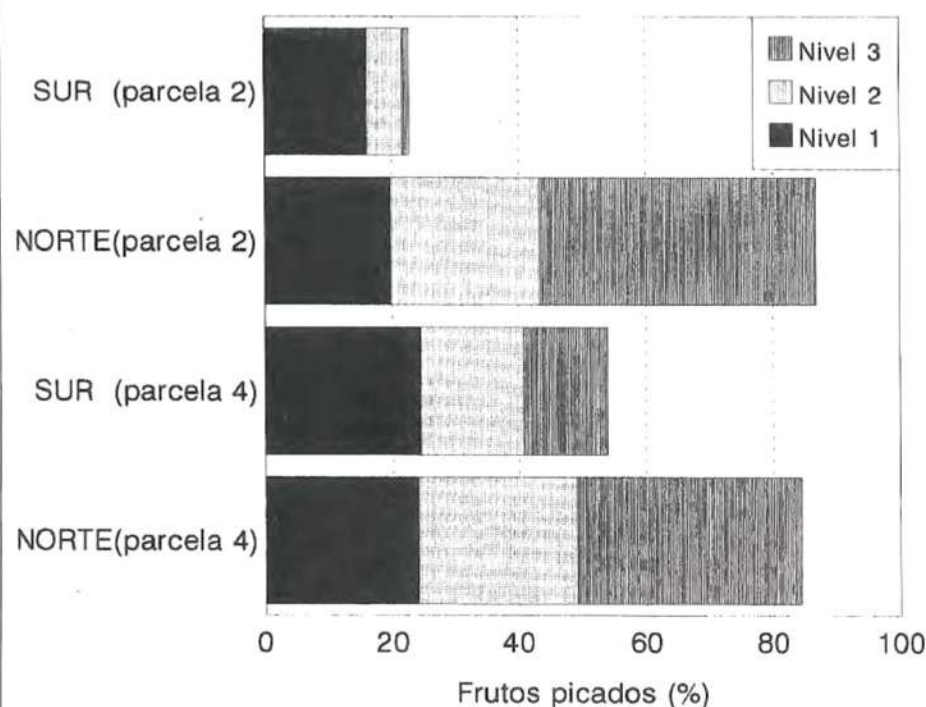


Fig. 2.- Observación al SEM de la corteza de frutos de mandarina 'Fortune' afectados de picado.

Figura 3

Influencia de la posición del fruto en el árbol (caras norte y sur) sobre la incidencia del picado del fruto de la mandarina 'Fortune'. Resultados expresados como porcentaje sobre el total de frutos en cada cara del árbol.



2,4-DP (50 mg l⁻¹), 3,5,6-TPA (15 mg l⁻¹) o Fenotiol (20 mg l⁻¹) para aumentar el tamaño del fruto. Se diseñó un experimento de bloques al azar con tres repeticiones de 4 árboles cada una.

Parcela nº 3. Situada en el término de Betxí (Castellón), con suelo franco-arcilloso y riego de superficie, con árboles de 4 años de edad, con patrón Citrange Carrizo y con un marco de plantación de 4x5 metros. En esta parcela se estudió la eficacia de la

época de aplicación del nitrato cálcico. Todos los árboles fueron tratados con 2,4-DP en julio para aumentar el tamaño del fruto. El 2,4-DP se aplicó a una concentración de 50 mg l⁻¹ y el nitrato cálcico al 2%. Se diseñó un experimento de bloques al azar con cuatro repeticiones de 2 árboles cada una.

Parcela nº 4. Situada en el término de Montesa (Valencia), con suelo franco-arenoso y riego por exudación, con árboles de 4

años de edad, con patrón Citrange Carrizo y con un marco de plantación de 4x5 m. En esta parcela se estudió el efecto sobre la alteración de la combinación de nitrato cálcico (2%) y 2,4-D (16 mg l⁻¹), y de la adición de ácido giberélico (10 mg l⁻¹) a esta mezcla. Los tratamientos se efectuaron el 11 de noviembre. Se diseñó un experimento de bloques al azar con tres repeticiones de 4 árboles cada una.

Los tratamientos se realizaron mediante pulverización con una mochila de presión manual, procurando mojar todos los frutos del árbol, y con un consumo medio de 5 litros por árbol. En todos los casos se añadió un mojante no iónico (eter alquil-poliglicol, 20% m.a.), a una concentración de 0,05 %.

Dada la influencia que sobre la alteración tiene la posición del fruto en el árbol, se dividió cada árbol en 2 zonas según la orientación norte y sur. De cada zona se determinó el nivel de picado de 100 frutos tomados al azar y situados en el exterior de la copa, clasificándolos en 4 grupos:

Nivel 0 =

Sin síntomas.

Nivel 1 =

Con síntomas ligeros (< 10 % superficie afectada)

Nivel 2 =

Con síntomas medios (10-50 % superficie afectada)

Nivel 3 =

Con síntomas severos (> 50 % superficie afectada)

A los resultados obtenidos se les aplicó el análisis de la varianza, utilizando el test de comparación múltiple de Tukey para la separación de medias.

Resultados

Caracterización de la alteración.

El *picado* de la mandarina 'Fortune' es una alteración fisiológica caracterizada por la aparición de depresiones puntuales en la superficie del fruto, que adquieren una tonalidad pardo-oscuro y que pueden coalescer y formar amplias zonas de afección.

Observadas al m.o., estas depresiones afectan sólo al tejido del flavedo y aunque no alteran la continuidad de la capa cuticular, implican el colapso de las células epidérmicas y de varios estratos subyacentes (Fig 1 c). En las primeras fases del desarrollo de la alteración, sólo unas pocas células epidérmicas se ven afectadas por la lesión (Fig. 1a). En las células afectadas se observan claros síntomas de degeneración celular. La vacuola pierde su contenido y el citoplasma se contrae, apareciendo amplias zonas vacías entre la pared celular y el citoplasma. La afección se extiende progresivamente hacia células vecinas epidérmicas y subepidérmicas y células parenquimáticas. En las figuras 1a y 1b se observan, al mismo tiempo, células subepidérmicas con claros síntomas de degeneración celular, y células, que si bien no están destruidas, se hallan en vías de degeneración. En estas últimas, o bien el tonoplasto ha perdido su intensidad o la vacuola está llena de sustancias de naturaleza proteica, lo que nunca se observa en células sanas. Esta degeneración celular afecta a todo tipo de células epidérmicas, incluyendo las células oclusivas y anexas de los estomas y las células que recubren las glándulas de aceites esenciales (Fig. 1). En fases más avanzadas, las paredes de las células parenquimáticas acaban colapsándose, lo que provoca depresiones en la superficie externa del fruto (Fig. 1c,d). La mayoría de las células epidérmicas muertas mantienen su estructura, aunque en algunas también se produce el colapso de sus paredes celulares. En ningún caso se ven afectadas las glándulas de aceites esenciales, que permanecen intactas, a pesar de que las células parenquimáticas que las envuelven y las epidérmicas que las cubren llegan a degenerar. Todo ello provoca que la superficie externa del fruto adopte un contorno irregular. En ningún caso, ni en las zonas más deprimidas, se produce la rotura de la capa cuticular (Fig. 1d), lo cual descarta la posibilidad de un origen mecánico de la alteración.

La observación al SEM de la zona dañada permite apreciar la aparición de zonas deprimidas (Fig 2a) prácticamente desprovistas de placas cerosas de naturaleza cristalina (Fig. 2b). Con la evolución de la alteración, la pérdida de placas cerosas se hace más evidente, como consecuencia de la destrucción de las células epidérmicas, res-

Figura 4

Efecto de la aplicación de nitrato cálcico sobre el *picado* del fruto de la mandarina 'Fortune'. Influencia de la época de aplicación. Resultados expresados como porcentaje sobre el total de frutos por árbol. Parcela nº 1.

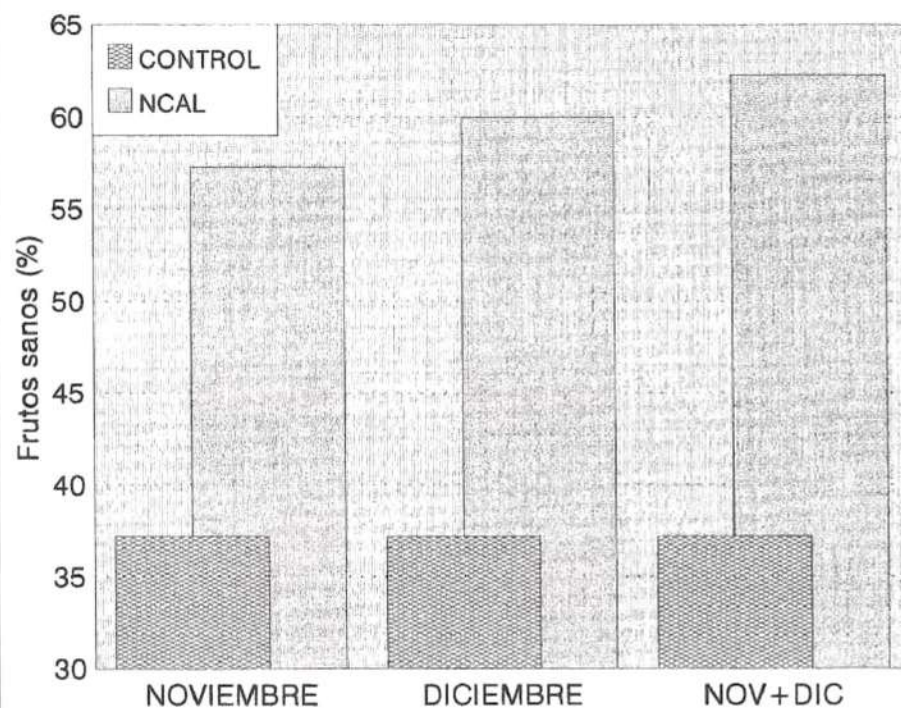


Figura 5

Efecto de la aplicación de nitrato cálcico sobre el *picado* del fruto de la mandarina 'Fortune'. Efecto de la época de aplicación. En esta parcela (nº 3) todos los árboles fueron tratados con 2,4-DP (50 mg l⁻¹) en julio para aumentar el tamaño del fruto. Resultados expresados como porcentaje sobre el total de frutos por árbol.

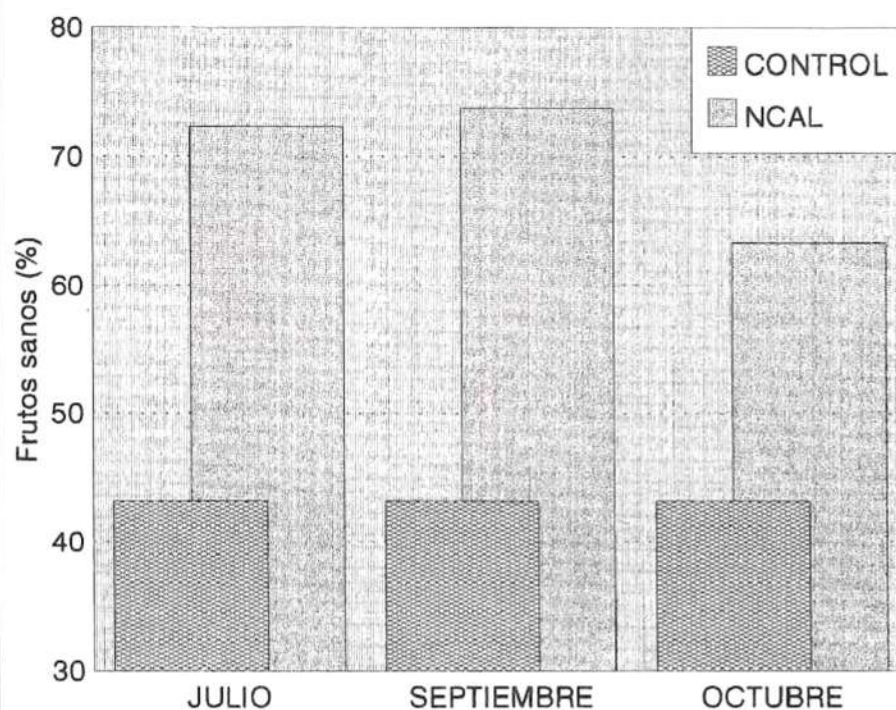


Figura 6

Influencia de la época de aplicación del nitrato cálcico sobre el *picado* del fruto de la mandarina 'Fortune'. Distribución según niveles de intensidad. Resultados expresados como porcentaje sobre el total de frutos por árbol. Parcela nº 1.

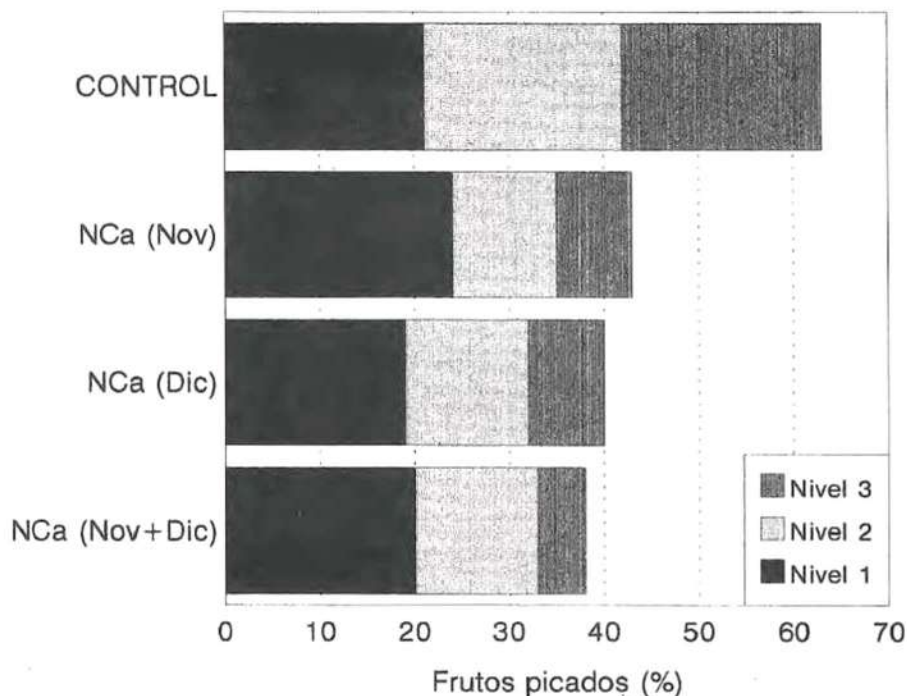
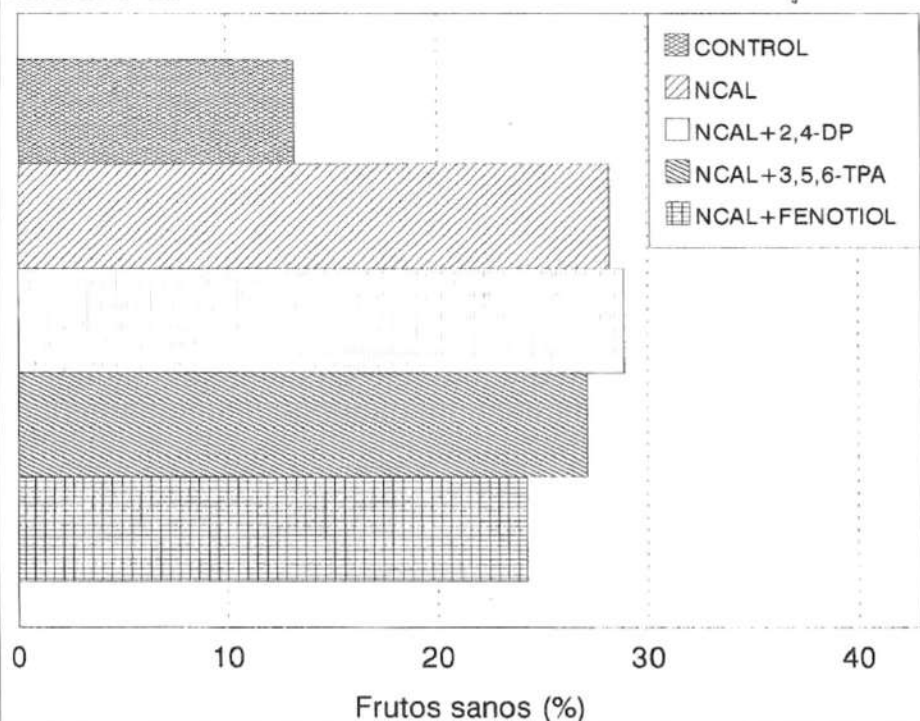


Figura 7

Efecto de la aplicación de nitrato cálcico, sólo o sobre árboles tratados en julio con 2,4-DP, 3,5,6-TPA o Fenotiol para aumentar el tamaño del fruto, sobre el *picado* de la mandarina 'Fortune'. Resultados expresados como porcentaje de frutos sobre el total de los situados en la cara norte de los árboles. Fecha de aplicación de la sal: 11 de noviembre. Parcela nº 2.



ponsables de su síntesis. No se ha apreciado ninguna diferencia morfológica entre los estomas de las zonas dañadas y sanas.

Eficacia de los tratamientos.

Una de las características más relevantes del *picado* de la mandarina 'Fortune' es su irregularidad en la distribución e intensidad. Así, existe gran variabilidad entre las parcelas, tanto en el porcentaje de frutos afectados como en la intensidad de la alteración. Por otra parte, la distribución en el árbol de los frutos afectados tampoco es uniforme (Fig.3). En todas las parcelas estudiadas hay una mayor presencia de lesiones en los frutos de la zona externa del árbol, y mayoritariamente en aquellos situados en su cara norte. Los frutos del interior del árbol no presentan alteración o ésta es de muy escasa intensidad.

Asimismo, al analizar la distribución de los frutos según la intensidad de *picado*, se observa siempre un menor porcentaje de frutos mediana (nivel 2) y severamente afectados (nivel 3) en los orientados en la cara sur del árbol (Fig. 3). El porcentaje de frutos ligeramente afectados (nivel 1) es similar en ambas caras del árbol.

De igual modo la presencia de manchas no se distribuye por igual en toda la superficie del fruto, sino que éstas son más abundantes en aquellas zonas que miran al exterior del árbol, siendo prácticamente nula en las partes del fruto que miran hacia el interior del árbol o que están protegidas por el follaje (resultados no presentados).

En todos los experimentos realizados, la aplicación de nitrato cálcico, a una concentración del 2 %, redujo significativamente el porcentaje de frutos afectados. Así, en la parcela nº 1 se pasó de un 37 % de frutos sanos en el control a un 60 % de frutos sanos en los árboles tratados en diciembre (fig 4); de igual modo, en la parcela nº 2 el porcentaje de frutos sanos en la cara norte del árbol se duplicó por acción del nitrato cálcico aplicado antes del cambio de color (Fig 7), pasando del 13 % en los árboles control al 28 % en los tratados.

La eficacia de estos tratamientos es independiente de la época de aplicación. En las figuras 4 y 5 se presentan los resultados obtenidos en dos parcelas en las que se aplicó el nitrato cálcico a una concentración del 2 %, entre los meses de julio a diciembre. El porcentaje de frutos sanos en los árboles tratados se situó entre el 57 y 75 %, aproximadamente, en todos los casos, mientras que en los árboles control se situó entre un 37 y un 45 %. La repetición del tratamiento, efectuada durante el cambio de color del fruto, no mejoró la respuesta (Fig. 4).

La aplicación de nitrato cálcico también redujo, en todos los casos, la intensidad de

la afección. Al expresar los resultados como porcentaje de frutos afectados según el grado de intensidad de la alteración, se observa un descenso en el de los más severamente afectados (niveles 3 y 2) en los árboles tratados (Fig. 6). El porcentaje de los que presentaban una intensidad baja (nivel 1) no se alteró por acción del tratamiento.

La aplicación de auxinas de síntesis no mejora la respuesta obtenida con la aplicación de nitrato cálcico. Los tratamientos efectuados con este tipo de sustancias se llevan a cabo en julio, para aumentar el tamaño final del fruto, o durante el cambio de color, para evitar su abscisión. La aplicación de nitrato cálcico a árboles que habían sido previamente tratados con auxinas de síntesis (2,4-DP; 3,5,6-TPA o Fenotiol) para aumentar el tamaño del fruto no fue más eficaz que la aplicación a árboles que no lo habían sido (Fig. 7).

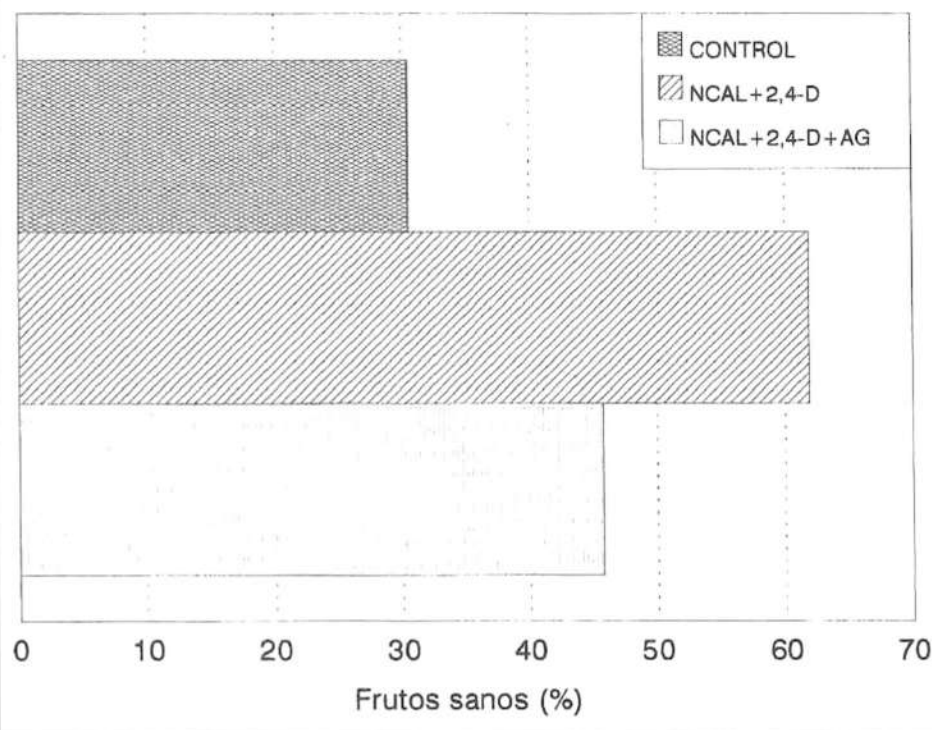
Finalmente, la adición de 2,4-D resulta eficaz en esta variedad para reducir la abscisión del fruto maduro. En la parcela nº 4 se evaluó la eficacia de los tratamientos que, tradicionalmente, se llevan a cabo en su cultivo para retrasar la recolección sin que el fruto pierda calidad. La aplicación de 2,4-D y nitrato cálcico, conjuntamente, duplicó el número de frutos sanos recolectados que pasó del 30.5 % en los controles al 61.9 % en los tratados (Fig. 8). La adición de ácido giberélico a esta mezcla redujo significativamente la respuesta, que dio lugar a un porcentaje de frutos sanos intermedio entre ambos tratamientos.

Discusión

El estudio histológico de la alteración conocida como *picado* del fruto de la mandarina 'Fortune' (ALMELA *et al.*, 1992a; 1992b), coincide con el descrito para el *cold-pitting* producido por bajas temperaturas en pomelos (*Citrus paradisi* Macf.) y lima (*Citrus aurantifolia* Swing.) (BROOKS Y MCCOLLOCH, 1936; HARVEY Y RYGG, 1936; PRATT, 1958; EAKS, 1960; GRIERSON, 1965; PIVIDAL *et al.*, 1978), o el que aparece, tanto en cámara como en el campo, en la variedad de naranja 'Pineapple' (PRATT, 1958; SMOOT *et al.*, 1971) y en limones (KLOTZ, 1978).

La aparición de la tonalidad oscura puede tener su origen en la oxidación enzimática del contenido vacuolar de las células epidérmicas y de los estratos celulares más internos. Este está formado fundamentalmente por fenoles (MATILE, 1984), que son liberados al citoplasma después de la pérdida de la integridad del tonoplasto. Los fenoles están implicados en la necrogénesis y el oscurecimiento de los tejidos y Martínez-Tellez (1993), estudiando el *picado* de la mandarina 'Fortune', observó que la concentración de fenoles solubles aumentaba con la severidad de los daños.

Figura 8
Efecto de la aplicación de 2,4-D y nitrato cálcico sobre el *picado* del fruto de la mandarina 'Fortune'. Influencia de la adición de ácido giberélico. Resultados expresados como porcentaje sobre el total de frutos por árbol. Parcela nº 4.



Las causas por las que se produce el manchado no se conocen. Algunos autores relacionan el *picado* producido por las bajas temperaturas con alteraciones en los lípidos de las membranas celulares, lo que puede alterar sus funciones y hasta su integridad (LYONS Y ASMUNDSON, 1965; LYONS Y RAISON, 1970; RAISON *et al.*, 1969). También se ha relacionado el *picado* con el aumento de la tasa respiratoria y la producción de etileno (LYONS, 1973), y con la acumulación de sustancias tóxicas en las células, como etanol y acetaldehído (MURATA, 1969; GRIERSON, 1971). Según Pantastico *et al.* (1968), la acumulación de sustancias volátiles (fundamentalmente acetaldehído) bajo la cutícula puede ser el causante del *picado*. Estudios efectuados por Martínez-Jávega *et al.* (1992) sobre el *picado* de la mandarina 'Fortune' indican que tras su almacenamiento a 5°C, apareció una incidencia de lesiones y altos valores de ACC y etanol.

La aparición de síntomas de *picado* en el campo se halla marcadamente influida por las condiciones climáticas de cada zona. Así, estudios previos (ALMELA *et al.*, 1992) relacionan la aparición de manchas en los frutos de la mandarina 'Fortune' con la presencia de vientos fríos y secos, de dirección norte, en los meses invernales y, también, con temperaturas bajas y humedades altas. Todos estos hechos explican, por un lado, que la alteración pueda ser desencadena-

da por más de un factor y que su incidencia en el campo varíe de año en año y, por otro, la gran variabilidad en la distribución del *picado* entre parcelas, tanto en el total de frutos con síntomas como en su intensidad.

La distribución de frutos *picados* en el árbol también se halla influido por la posición del fruto en el árbol. Así, la presencia de manchas no se distribuye por igual por toda la superficie de los frutos afectados, sino que es más abundante en aquellas zonas del fruto que miran hacia el exterior del árbol. Tampoco la distribución en el árbol de los frutos afectados es uniforme, sino que el porcentaje de frutos *picados* es mucho mayor en la cara del árbol orientada al norte, mientras que en los frutos de la cara orientada al sur la incidencia de la alteración es menor. Es decir, en la orientación sur del árbol se presentan un menor número de frutos afectados, y en éstos la afección es menos intensa. Estas observaciones coinciden con las de otros autores, tanto para la mandarina 'Fortune' (ALMELA *et al.*, 1992a), como para la naranja 'Valencia' (EL-OTMANI Y COGGINS, 1985) y el pomelo 'Marsh' (PURVIS, 1980).

La aplicación de ciertas sales y/o sustancias hormonales se han mostrado eficaces en reducir la aparición de síntomas de *picado* en el campo. La aplicación de nitrato cálcico (2 %) se muestra eficaz para reducir la incidencia de la alteración, con independencia

de la época de aplicación, lo que coincide con los resultados obtenidos por JACKSON *et al.* (1992). Su uso no solo reduce el porcentaje de frutos afectados, sino que disminuye la intensidad del *picado* en los frutos. El calcio juega un papel esencial en la aparición y desarrollo de muchas alteraciones fisiológicas en frutos. Así la presencia de calcio en los tejidos vegetales puede reducir los ratios de respiración, retrasar la maduración y aumentar la vida de los frutos durante su almacenamiento (BANGERTH, 1979). Ferguson (1984) indica que altos niveles de calcio pueden retrasar la maduración del fruto y aumentar su firmeza, y resalta los efectos positivos de este catión sobre las membranas celulares. Recientemente se ha sugerido que el calcio juega un papel muy importante en la respuesta de las plantas expuestas a bajas temperaturas, como primer transductor de los daños producidos (MINORSKY, 1985). Finalmente, al calcio se le han asignado efectos positivos en la estructura citológica, crecimiento, metabolismo y propiedades de transporte en los tejidos vegetales (WOODS *et al.*, 1984), y sobre la integridad de la cutícula y las paredes celulares (GLENN Y POOVAIAH, 1989).

Las auxinas también se han mostrado eficaces para reducir la aparición de síntomas de *picado* en el campo (AGUSTI *et al.*, 1993). Sin embargo, en nuestros experimentos, la adición al nitrato cálcico de 2,4-DP, 3,5,6-TPA o Fenotiol no mejoraron los resultados obtenidos con la sal. La combinación de nitrato cálcico y 2,4-D se ha mostrado eficaz en la reducción de síntomas. Pero la adición de ácido giberélico a esta mezcla, combinación ampliamente utilizada para mejorar la conservación del fruto en el árbol, reduce la respuesta obtenida, lo que coincide con estudios previos efectuados por Jackson *et al.* (1992) e indica que esta alteración no se halla relacionada con la senescencia (GRIERSON, 1986).

La aplicación de nitrato cálcico no influye sobre la evolución del tamaño del fruto ni sobre el espesor de la corteza, aunque sí produce un cierto retraso en el cambio de coloración del fruto, en coincidencia con los resultados de Jackson *et al.* (1992).

Abreviaturas

2,4-D.- Ácido 2,4-diclorofenoxiacético, ester isopropílico.

2,4-DP.- Ácido 2,4-diclorofenoxipropiónico, ester butilglicólico.

3,5,6-TPA.- Ácido 3,5,6-tricloro-2-piridiloxiacético.

Fenotiol.- Tioester etílico del ácido 4-cloro-o-toliloxiacético

BIBLIOGRAFÍA

AGUSTI, M. y V. ALMELA. 1989. El cultivo de la mandarina Fortune en España. Problemas y perspectivas. Fruticultura Profesio-

nal, 25: 39-48.

AGUSTI, M. y V. ALMELA. 1991. *Aplicación de fitoreguladores en citricultura*. AEDOS, Barcelona, España, ISBN: 84-7003-319-0, 269 pp.

AGUSTI, M.; V. ALMELA y J.L. GUARDIOLA. 1988. Aplicación de ácido giberélico para el control de alteraciones de la corteza de las mandarinas asociadas a la maduración. *Inves. Agr. Prod. Veg.*, 3: 125-137.

AGUSTI, M.; V. ALMELA; M. JUAN, M. AZNAR, S. ZARAGOZA, E. PRIMO-MILLO, 1993. Aplicación de 3,5,6-TPA para aumentar el tamaño del fruto en los ágrios. *Levante Agrícola*, 323: 117-122.

ALMELA, V.; AGUSTI, M. y M. JUAN. 1992a. El *picado* del fruto de la mandarina Fortune. Descripción de la alteración y factores que lo influyen. *Levante Agrícola*, 319: 80-86.

ALMELA, V.; M. AGUSTI y J. PONS. 1992b. Rind spots in Fortune mandarin. Origin and control. *Physiol. Plant.*, 85: 60.

BANGERTH, F. 1979. Calcium-related physiological disorders of plants. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 17: 97-122.

BONO, R.; L. FERNANDEZ DE CORDOVA y J. SOLER. 1984. Comportamiento de los cultivares «Lage», «Fairchild», «Fremont», «Fortune» y «Temple». *Levante Agrícola*, 249-250: 10-14.

BROOKS, C. y I.P. MCCOLLOCH. 1936. Some storage diseases of grapefruit. *J. Agr. Res.*, 52: 319-351.

EAKS, I.L. 1960. Physiological studies of chilling injury in citrus fruits. *Plant Physiol.*, 35: 632-636.

EL OTMANI, M. y C.W. COGGINS Jr. 1985. Developmental changes in «Valencia» orange fruit epicuticular wax in relation to fruit position on the tree. *Scientia Hort.*, 41: 69-81.

FERGUSON, I.B. 1984. Calcium in plant senescence and fruit ripening. *Plant Cell Environ.*, 7: 477-89.

FURR, J.R. 1964. New tangerines for the desert. *Calif. Citrog.*, 49: 266-276.

GLENN, G.M. y B.W. POOVAIAH. 1989. Cuticular properties and postharvest calcium applications influence washing of sweet cherries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 114: 781-788.

GRIERSON, W. 1965. Factors affecting postharvest market quality of citrus fruits. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 9: 65-68.

GRIERSON, W. 1971. Chilling injury in tropical and subtropical fruit. IV. The role of packaging and waxing in minimizing chilling injury in grapefruit. *Proc. Trop. Reg. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 15: 76-88.

GRIERSON, W. 1986. Physiological disorders. En: *Fresh citrus fruits*, W. F. Wardowski, S. Nagy y W. Grierson (Eds.), MacMillan Publishers, Basingstoke, Reino Unido, ISBN: 0-333-43678-4, pp 361-378.

GUARDIOLA, J.L.; M. AGUSTI; J. BARBERA y A. SANZ. 1981. Influencia del ácido giberélico en la maduración y senescencia del fruto de la mandarina Clementina (*Citrus reticulata* Blanco). *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.*, 21: 225-239.

HARVEY, E.M. y G.L. RYGG. 1936. Field and storage studies on changes in the composition of the rind of the «Marsh» grapefruit in California. *J. Agr. Res.*, 52: 747-787.

JACKSON, P.R.; M. AGUSTI; V. ALMELA y M. JUAN. 1992. Tratamiento para mejorar la

conservación en el árbol del fruto de la mandarina «Fortune». *Levante Agrícola*, 317-318: 16-22.

KLOTZ, L.J. 1978. Fungal, bacterial and non-parasitic diseases and injuries originating in the seedbed, nursery and orchard. En: *The citrus industry*, Vol. IV, W. Reuther, E.C. Calavan y G.E. Carman (Eds.), Univ. California, Berkeley, EEUU.

LYONS, J.M. 1973. Chilling injury in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 24: 445-466.

LYONS, J.M. y C.M. ASMUNDSON. 1965. Solidification of unsaturated/saturated fatty acid mixtures and its relationship to chilling sensitivity in plants. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 42: 1056-58.

LYONS, J.M. y J.K. RAISON. 1970. A temperature induced transition in mitochondrial oxidation: Contrasts between cold and worm blown animals. *Comp. Biochem. Physiol.*, 37: 405-411.

MARTINEZ TELLEZ, M.A. 1993. Estudio de los cambios bioquímicos y fisiológicos inducidos por el almacenamiento a bajas temperaturas en frutos cítricos. Tesis Doctoral. E.T.S.I.A. Univ. Politécnica, Valencia, España, 196 pp.

MARTINEZ-JAVEGA, J.M.; C. SAUCEDO; M.A. DEL RIO y M. MATEOS. 1992. Influence of storage temperature and coating on the keeping quality of «Fortune» mandarines. *Proc. Int. Soc. Citriculture*. (En prensa)

MATILE, P.H. 1984. Das toxische kompaktment der pflanzenzelle. *Naturwissenschaften*, 71: 18-24.

MINORSKY, P.V. 1985. An heuristic hypothesis of chilling injury in plants: a role for calcium as the primary physiological transducer of injury. *Plant Cell Environ.*, 8: 75-94.

MURATA, T. 1969. Physiological and biochemical studies of chilling injury in bananas. *Physiol. Plant.*, 22: 401-411.

PANTASTICO, E.B.; J. SOULE y W. GRIERSON. 1968. Chilling injury in tropical and subtropical fruits. II: Limes and grapefruit. *Proc. Trop. Region Amer. Soc. Hort. Sci.*, 12: 171-183.

PIVIDAL, F.; B. SLUTZKY; M.C. SANTANA; J. RODRIGUEZ y F. GÜECHE. 1978. Análisis de un daño presentado en la toronja cosechada en la Isla de la Juventud durante el almacenamiento refrigerado. 1º Forum de Calidad de los Cítricos. Habana. Resumen nº 40.

PRATT, E.W. 1958. Florida guide to citrus insects diseases and nutritional disorders in color. *Flo. Agr. Exp. Stn.*, Florida, EEUU.

PURVIS, A.C. 1980. Influence of canopy depth on susceptibility of «Mash» grapefruit to chilling injury. *HortScience*, 15: 731-733.

RAISON, J.K.; J.M. LYONS y W.W. THOMSON. 1969. The influence of membrane on the temperature induced changes in the kinetics of some respiratory enzymes of mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.*, 142: 83-90.

SMOOT, J.J.; L.G. HOUCK y H.B. JOHNSON. 1971. Market diseases of citrus and other subtropical fruits. *USDA Agric. Handb.*, 398.

WOODS, C.M.; M.S. REID y B.D. PATTERSON. 1984. Response to chilling stress in plant cells. I. Changes in cyclosis and cytoplasmic structure. *Protoplasma*, 121: 8-16.

¹Dpto. Prod. Vegetal. Universitat Politècnica. Valencia

²Dpto. de Citricultura. (IVIA). Moncada. Valencia